この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

体外診断用医薬品　　** 2014 年 11 月改訂(第 7 版)
＊2014 年　8 月改訂(第 6 版)

製造販売承認番号:22100AMX00675000

マイコバクテリウム核酸キット

コバス TaqMan® MAI

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
3. 添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

コバス TaqMan MAI

1. TaqMan MAI マスターミックス［MAI MMX］	8×0.46 mL
プライマー-KY436BUBZBIO	
プライマー-KY703BIOBUBZ	
蛍光標識 DNA プローブ-KY1223FBH4	
蛍光標識 DNA プローブ-KY1351HXBQ8	
2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸(dATP)	
2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸(dCTP)	
2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸(dGTP)	
2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸(dUTP)	
Z05 DNA ポリメラーゼ	
(ウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)を含む)	
2. TaqMan MYCO マグネシウム試薬［MYCO Mg^{2+}］	8×0.2 mL
3. TaqMan MYCO 内部コントロール［MYCO IC］	8×0.1 mL
4 TaqMan MAV (+)コントロール［MAV (+)C］	1×0.75 mL
5 TaqMan MIN (+)コントロール［MIN(+)C］	1×0.75 mL

【使用目的】

体液、組織、気管支洗浄液又はそれらの培養液中の*Mycobacterium avium* DNA及び*Mycobacterium intracellulare* DNA の検出(*Mycobacterium avium*感染症及び*Mycobacterium intracellulare*感染症の診断の補助)

【測定原理】

本キットは、全自動 PCR 測定装置「コバス TaqMan 48」専用の試薬です。
本キットはリアルタイム Polymerase Chain Reaction(PCR)法を応用し、核酸増幅及び測定の操作を所定サイクル連続的に繰り返し、各サイクルの PCR 産物をリアルタイムにモニターしながら *M. avium* DNA 及び *M. intracellulare* DNA を検出します。本キットでは両菌種に共通の 16S rRNA 遺伝子領域を標的としたプライマーと、菌種それぞれに特異的な蛍光標識 DNA プローブを用いることで、*M. avium* 及び *M. intracellulare* DNA を判別して検出します。
本キットでは、ウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)による増幅 DNA の分解技術 [1]を採用することにより、増幅 DNA のコンタミネーションによって起こる誤判定を最小限に抑制することができます。更に、内部コントロールを検出することにより妨害物質による PCR の阻害を知ることができ、精度の高い *M. avium* 及び *M. intracellulare* DNA の検出を行うことができます。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

本キットの測定試料には、体液、組織、気管支洗浄液、培養液から抽出した核酸溶液を用いてください。培養液を用いる場合は、通常、菌の増殖が確認された時点での培養液を用いてください。
なお、溶血により血液成分が多量に混在する検体では、反応が阻害され偽陰性となることがありますので注意してください。また、胸水検体ではフィブリンの析出により採取後凝固することが多いため、採取する際にはクエン酸ナトリウムもしくは EDTA を添加した容器を使用してください。ヘパリンは PCR 反応を阻害しますので、使用しないでください。検体を保存する場合は、-70℃以下で保存してください。
注意:体液には、喀痰、尿検体などが含まれます。

2. 検体の調製法

以下に主な核酸抽出方法を示します。操作はエリア2で行ってください。エリア1～3については【測定上の注意】の項、「5.コンタミネーションの防止法」を参照してください。

注意) クロスコンタミネーションにじゅうぶん注意し、エアロゾルの飛散や手袋の汚染などを避ける特別の注意を払ってください。複数の検体を扱う場合でもスクリューキャップチューブのキャップ開閉は検体ごとに行ってください。また、検体ごとに新しいチップを使用してください。

(1) 検体の前処理法

本キットで測定する検体の前処理には、スプタザイム(極東製薬)での均質化処理を行った後、米国の CDC が推奨している NALC 法で処理し、最後に軽く遠心処理を行う方法をお薦めします。ほかの方法で処理された測定試料ではじゅうぶんな性能を得られないことがあります。

〔2% NALC-NaOH 液の調製法〕
0.1 mol/L Na_3citrate 50 mL＋4% NaOH 50 mL
使用前に 0.5 g N-Acetyl-L-Cysteine を加え氷桶などで冷却し 24 時間以内に使用します。

① 臨床材料※1を等量、又は倍量のスプタザイム※2で均質化します。
② 15 mL 遠心管に 1/5 量以内の均質化検体を移します。
③ 3,000 g で 20 分間遠心(4℃)した後、上清を除去します。
④ 残査に2倍量の2% NALC-NaOH 液を加えます。
⑤ 混和後、15 分間5～25℃で放置します。
⑥ PBS(pH6.8)をトップリングまで加えます(5倍量以上)。
⑦ 転倒混和後、3,000 g で 20 分間遠心(4℃)します。
⑧ 上清を除去し、PBS(pH6.8)を1 mL 添加後混和します。
⑨ 500 g で1分間軽く遠心します。
⑩ 上清 100 μL を核酸抽出に使用します(直ぐに測定しない場合は-20℃以下で保存します)。

※1 体液(喀痰、尿など)、BAL、そのほかの臨床検体が対象となり、全量を使用します。
※2 スプタザイムの調製方法は製品の指示書に従ってください。
なお、上記の NALC 処理が不可能な場合は、各施設にて実施しているアルカリによる検体処理も可能ですが、じゅうぶんな性能を得られない場合がありますので注意してください。また、NALC 法での検体処理過程では感染の危険性がありますので、実施にあたっては手袋、マスクを使用し、安全キャビネット内で操作してください。

(2) 検体の調製法

別売品の専用キットによる検体の調製法

核酸の抽出にあたっては、各抽出試薬の使用方法に従って行うようにしてください。

① 検体洗浄液※500 μL に前処理済みの検体 100 μL を加えてよく混和します。
② 12,500 g で 10 分間遠心分離します。
③ 上清を除去し、溶菌試液※100 μL を加えてよく混和し、沈殿を分散させます。
④ 60℃で 45 分間インキュベーションします。
⑤ 中和試液※100 μL を加えてよく混和します。2～8℃で4日間、-70℃以下で6カ月間保存可能です。

※ 別売品については【用法・用量(操作方法)】の項、「2. 別途必要な器具・器材・試料等」を参照してください。

3. 妨害物質・妨害薬剤

ヘモグロビン及び唾液の本品の測定への影響を検討した結果、ヘモグロビンは 5.2 mg/mL まで、唾液は 10%まで認められませんでした。
培養した *M. avium* 又は *M. intracellulare* 試料を添加した NALC 処理済みの結核菌群、*M. avium* 及び *M. intracellulare* 陰性検体に、以下の薬剤について、それぞれ最高血中濃度の3倍になるように添加し、本キットで3重測定したところ、測定値への影響は認められませんでした。

薬剤名	略号	一般名	最高血中濃度(μg/mL)
イソニアジド	INH	Isonicotinic acid hydrazide	5～7
エタンブトール	EB	Ethambutol dihydrochloride	1.7
リファンピシン	RFP	Rifampicin	7.99
ピラジナミド	PZA	Pyrazinecarboxamide	30～35
カナマイシン	KM	Kanamycin monosulfate	2.0
ストレプトマイシン	SM	Streptomycin sulfate salt	25～30
クラリスロマイシン	CAM	Clarithromycin	0.483～0.801

4. 交差反応性

結核菌群4種(*M.tuberculosis, M.bovis, M.microti, M.africanum*)及び非結核性抗酸菌 33 種から抽出した核酸試料について試験を行ったところ、標的とする菌以外の微生物との交差反応は認められませんでした。ただし、非結核性抗酸菌は多数の新種が報告されており、それらすべてにおいて交差反応を否定できるものではありません。

5. コンタミネーションの防止法

本キットでは TaqMan MAI マスターミックスにウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が添加されており、また DNA ポリメラーゼによる DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて PCR を行います。したがって、本キットにて増幅された DNA のキャリーオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止することはできますが、検体間で発生するクロスコンタミネーションを防止することはできません。クロスコンタミネーションは、主に検体を扱ったピペットなどで発生するエアロゾルやピペット本体の汚染が原因となりますので、検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃を徹底することで、クロスコンタミネーションを最小限に防止することができます。したがって、本キットの測定に当たっては次の事項を徹底するようにしてください。

(1) 操作を行う場所は、以下のように目的に応じて1～3のエリアに区分けします。

エリア1:アンプリミックスの調製及び分注を行います。
紫外線照射の可能なクリーンベンチなどをエリア1として利用すると便利です。このエリア専用のピペットとチップなどを用意し、ほかのエリアとの共用は避けてください。また、ピペットのチップには、疎水性フィルター付きのものを使用してください。

エリア2:試料及びコントロールの調製から分注までを行います。
紫外線照射の可能な安全キャビネットをエリア2として利用すると便利です。このエリア専用のピペットとチップなどを用意し、ほかのエリアとの共用は避けてください。また、ピペットのチップには、疎水性フィルター付きのものを使用してください。

エリア3:「コバス TaqMan 48」で増幅と検出を行います。
このエリア専用のピペットとチップなどを用意し、ほかのエリアとの共用は避けてください。このエリアで使用する器具や保護衣及び増幅した DNA をほかのエリアに持ち込まないでください。

(2) 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる DNase が少量でも検体に混入しますと、DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。

(3) 実験台及び使用器具などが検体や増幅 DNA で汚染された場合は、用時調製した次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)でよく拭き取るか、紫外線照射をじゅうぶん行ってください。なお、ピペットなどの内部が汚染されたと判断された場合は、直ちにその使用を中止して新しい器具に交換してください。

(4) 試料の調製時には、すべて静かに操作してエアロゾルの発生をできる限り防止してください。

以上の事項に従っても、クロスコンタミネーションが起こる可能性がありますので、結果の判定にはじゅうぶん注意してください。

6. その他

本キットはコバス TaqMan 48 機器専用です。

7. その他の留意事項

試料中に PCR の妨害物質が存在すると正しい判定結果が得られないので注意してください。また、試料中に標的 DNA が存在しても最小検出感度以下である場合には陰性と判定されることがありますので注意してください。
試料中に標的以外の細菌の DNA が多量に存在すると、競合反応のために正しい判定結果が得られないことがありますので注意してください。

*【用法・用量(操作方法)】

エリア1～3については【操作上の注意】の項、「5. コンタミネーションの防止法」を参照してください。

1. 試液の調製方法及び安定性

各試薬は、30 分以上 15～25℃に戻してから使用してください。試薬の温度が低い場合に反応がじゅうぶんでないため、本来の性能が得られないことがあります。

(1) アンプリミックスの調製(エリア1で調製してください)

TaqMan MAI マスターミックス[MAI MMX] 1本に TaqMan MYCO マグネシウム試薬[MYCO Mg^{2+}]200 μL 及び TaqMan MYCO 内部コントロール[MYCO IC]50 μL を加えて 10～15 回転倒混和します。この分量で 12 テスト分です。調製後は遮光して2～8℃の保存で2時間安定です。

(2) MAV 陽性コントロールの調製(エリア2で調製してください)

TaqMan MAV(+)コントロール[MAV(+)C]50 μL に溶菌試液※200 μL を加えてよく混和します。この液 100 μL を別のチューブに取りヒートブロックで 60℃、45 分間インキュベーションし、中和試液※100 μL を加えてよく混和します。調製後は、2～8℃の保存で8時間安定です。

(3) MIN 陽性コントロールの調製(エリア2で調製してください)

TaqMan MIN(+)コントロール[MIN(+)C]50 μL に溶菌試液※200 μL を加えてよく混和します。この液 100 μL を別のチューブに取りヒートブロックで 60℃、45 分間インキュベーションし、中和試液※100 μL を加えてよく混和します。調製後は、2～8℃の保存で8時間安定です。

※ 別売品については【用法・用量(操作方法)】の項、「2. 別途必要な器具・器材・試料等」を参照してください。

2. 別途必要な器具・器材・試料等

エリア1(アンプリミックスの調製及び分注を行います)

(1) K チューブ※1 もしくは K トレイと K トレイキャップアレイ(24 本一体型)※2
(2) K キャリア※1 もしくは K トレイ キャリア※2
(3) K キャリア ホルダー※1 もしくは K トレイ ホルダー※2
(4) K チューブ キャッパー※1
(5) マイクロピペット及びチップ
(チップは疎水性フィルター付きで、50 μL 及び 200 μL が量りとれるもの)
(6) 試験管ミキサー
(7) ゴム手袋(パウダーフリー)
(8) クリーンベンチ(陽圧)

エリア2(試料及びコントロールの調製から分注までを行います)

(9) アンプリコア マイコバクテリウム検体前処理試薬セットⅡ
① 検体洗浄液[RW] 2×25 mL
② 溶菌試液[RL] 3×6 mL
③ 中和試液[RN] 2×5 mL
(10) スクリューキャップ付き 1.5 mL 用微量高速遠心チューブ及びチューブラック
(11) マイクロピペット及びチップ
(チップは疎水性フィルター付きで、50 μL、100 μL、200 μL 及び 500 μL が量りとれるもの)
(12) ディスポーザブルスポイト(先端の細いもの)
(13) K チューブ キャッパー※1 もしくは K トレイ キャッピングツール※2
(14) ゴム手袋(パウダーフリー)
(15) 安全キャビネット(陰圧)
(16) 試験管ミキサー
(17) 微量高速遠心機※3
(18) ヒートブロック式インキュベーター※3(60℃を保持できるもの)

エリア3(「コバス TaqMan 48」で増幅と検出を行います)

(19) 全自動リアルタイム PCR 測定装置「コバス TaqMan 48」及び専用の備品及び消耗品※1, ※2
(20) アンプリリンク(v3.3 又はそれ以降)用データステーション及び取扱説明書
(21) コバス TaqMan MAI Test Definition File 用 CD
(22) K キャリア トランスポーター※1
(23) K キャリア ラベル※1
(24) ゴム手袋(パウダーフリー)
(25) アンプリリンク(v3.3 又はそれ以降)

※1 コバス TaqMan / コバス TaqMan 48 用の消耗品を使用してください。
※2 コバス TaqMan 48 専用の消耗品を使用してください。
なお、※1、2はそれぞれ同じ数字のものを組み合わせてご使用ください。
※3 別売品として以下の機器・器具をお薦めします。
(17) 微量高速遠心機:ハイマック CT13 又は CT13R など
(18) ヒートブロック式インキュベーター:ドライサーモユニット DTU-2B など

3. 操作方法 (K チューブをご使用になる場合)

試験は1バッチ当たり 24 テスト単位で行ってください。その際1回の試験につきコントロールとして各陽性コントロールを1テストずつ測定してください。

(1) アンプリミックスの分注(エリア1で行います)

① K キャリアを K キャリアホルダーにセットします。
② K チューブの側面に触れないよう新しい K チューブをキャリアにおきます。テスト数が 24 テストより少ない場合、サーマルサイクラー中の K キャリアのバランスを保つため、1、2、5、20、23 及び 24 の位置には必ずチューブをセットします。テスト数が6テストより少ない場合は蓋をした K チューブを上記の場所に置いてください。
③ アンプリミックスを調製します※1。
④ K チューブキャッパーを用いて K チューブの蓋を開けます。開けた蓋は、K キャリアホルダー付属の K チューブポジションホルダーに置きます。
⑤ 疎水性フィルター付きチップを用いて K チューブの各チューブにアンプリミックスを 50 μL ずつ量りとります。
⑥ 蓋をせずにエリア2に持ち込み、使用するまで遮光して2～8℃で保存してください(2時間以内に使用してください)。

(2) 測定試料の準備(エリア2で行います)

⑦ 【操作上の注意】の項、「2. 検体の調製法」を参考に検体を調製します。その際は、クロスコンタミネーションにじゅうぶん注意してください。
⑧ アンプリミックスを分注した K チューブに、疎水性フィルター付きチップを用いて試料(調製済みの各コントロール※1 又は検体抽出液)50 μL を分注します。
⑨ K チューブキャッパーを用いて K チューブの蓋を閉め、気泡が生じていないこと及びすべての K チューブの容量が同じであることを目視にて確認します。気泡が含まれる場合には気泡を除去してください。しっかりと蓋をし、エリア3に持ち込みます。

注意) 試料を加える際、クロスコンタミネーションが起こる可能性があるためじゅうぶん注意して操作してください。試料添加時にエアロゾルが発生しないよう、またキャップをするときなどに手袋から汚染しないよう、特別の注意を払ってください。試料を加えた K チューブは 90 分以内に増幅を開始してください。

(3) 増幅反応と検出反応(エリア3で行います)

⑩ 「コバス TaqMan 48」用のデータステーション(以下データステーションを起動させ、ユーザーID 及びパスワードを入力してログオンします※2。
⑪ 「コバス TaqMan 48」本体のスイッチを入れて機械の始動をした後、「コバス TaqMan 48」の取扱説明書に従って準備を行ってください。以前使用した K キャリアがサーマルサイクラーに放置されていた場合、K キャリアトランスポーターを用いて片付けます※2。
⑫ データステーションからアンプリリンクを開き、ユーザーID 及びパスワードを入力してログオンします※2。
⑬ データステーションの取扱説明書に従ってオーダーを作成します。※2
試料について"CTM-MAI"を選択します。必要によりプリントアウトして内容を確認します。
⑭ サーマルサイクラーに、K キャリアトランスポーターを使用して K キャリアをセットします。サーマルサイクラーに、K キャリアをしっかりと押し込みます。バーコード面が手前を向いていることを確認します。
⑮ データステーションの取扱説明書に従ってスタートさせます。以後の操作は自動的に行われ、判定結果がデータステーションの[Result](結果)ウィンドウに表示されます※2。
⑯ *M. avium* の標的 DNA は測定波長 520 nm(励起波長 485 nm)、*M. intracellulare* の標的 DNA は測定波長 575 nm(励起波長 540 nm)、内部コントロールは測定波長 715 nm(励起波長 680 nm)にて測定します。
⑰ 表示された結果を検討し、アクセプトします。必要に応じ、プリントアウトしてください※2。

※1 調製については【用法・用量(操作方法)】の項、「1.試液の調製方法及び安定性」を参照してください。
※2 操作の詳細については、「コバス TaqMan 48」もしくはデータステーションの取扱説明書を参照してください。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定

(1) 判定法

コバス TaqMan 48 では検体及びコントロールの結果の判定を自動で行います。測定画面又は印字用紙に結果とともに記されるフラグ及びコメントをチェックして、測定が正しく行われたことを確認します。測定が正しく行われた場合、各コントロールに対してフラグ及びコメントは表示されず、下記の結果が得られます。

コントロールの判定結果

コントロール	表示	解釈※1, ※2
TaqMan MAV (+) コントロール	AV PC Pos	*M. avium* 陽性コントロール陽性、*M. intracellulare* 陰性コントロール陰性
TaqMan MIN (+) コントロール	IN PC Pos	*M. intracellulare* 陽性コントロール陽性、*M. avium* 陰性コントロール陰性

各コントロールの測定結果を確認して測定が有効であった場合、各測定検体についても同様にフラグ及びコメントをチェックします。

※1 各陽性コントロールが陽性の結果表示を得た場合、もう一方の標的 DNA についての判定は陰性であることを示します。
※2 各陽性コントロールがその標的 DNA について陰性の結果を得た場合又はもう一方の標的 DNA について陽性の結果を得た場合、各コントロールの判定結果は無効であり、フラグ及びコメント共に“PC_ INVALID”と結果表示されます。
検体の測定結果については以下のとおり表示されます。

検体の判定結果

結果	表示
検出感度以下	(-)
陽性	MAV 又は MIN 又は MAV + MIN
判定無効	Invalid

(2) 測定の無効と再検

どちらか一方又は両方の陽性コントロールの測定結果が“PC_ INVALID”と表示された場合、その回の試験は無効となります。再度すべての測定を実施してください。

2. 結果の判定にかかる注意

(1) 以下の検体を測定した場合、偽陰性となることがありますので注意してください。
① 血液が大量に混入している検体
② 唾液が多く喀痰成分が少ない検体
③ 塗抹陰性、もしくは弱陽性で菌量の少ない検体
④ 不適当な検体前処理により、DNA 抽出が不じゅうぶんな場合
⑤ NALC 法により検体を処理せず、集菌がじゅうぶんでない場合
上記のような検体の場合は、血液の混入がなく、喀痰成分が多い検体を採取し再度測定を行ってください。DNA 抽出操作及び集菌操作が不適切であると判断された場合は、再度検体の処理をしてから測定してください。

(2) そのほかの原因でも偽陰性となる可能性があり、本キットで陰性と判定されても必ずしも *Mycobacterium avium* もしくは *Mycobacterium intracellulare* の存在を否定するものではありません。また、複数種の抗酸菌が混在した場合、必ずしも両方の菌種が検出されるとは限りませんので注意してください。
測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。

(3) 判定結果において偽陽性及び偽陰性などが疑われる場合は、貴施設において、①処理済検体(核酸抽出・精製標本)の残りを凍結(-80℃が望ましい)にて保存、②使用した試薬の残りを2～8℃にて保存した上で、弊社までご連絡ください。

【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従い、感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

(1) *Mycobacterium avium* DNA の検出

① 感度試験
「管理用試料1(*Mycobacterium avium* DNA 濃度 約5コピー/PCR)」を試料として操作した場合の Hit Rate%(シグナルが検出された試料数/正しく測定された試料数 ×100)は 95%以上です。

② 正確性試験
(a) 「TaqMan MIN (+)コントロール」を測定するとき、陰性を示します。
(b) 「TaqMan MAV (+)コントロール」及び「管理用試料2(*Mycobacterium avium* DNA 濃度 約 10 コピー/PCR)」を測定するとき、それぞれ陽性を示します。

③ 同時再現性試験
(a) 「TaqMan MIN (+)コントロール」を4回同時に測定するとき、すべて陰性を示します。
(b) 「TaqMan MAV (+)コントロール」を4回同時に測定するとき、すべて陽性を示します。

(2) *Mycobacterium intracellulare* DNA の検出

① 感度試験
「管理用試料3(*Mycobacterium intracellulare* DNA 濃度 約5コピー/PCR)」を試料として操作した場合の Hit Rate%(シグナルが検出された試料数/正しく測定された試料数×100)は 95%以上です。

② 正確性試験
(a) 「TaqMan MAV (+)コントロール」を測定するとき、陰性を示します。
(b) 「TaqMan MIN (+)コントロール」及び「管理用試料4(*Mycobacterium intracellulare* DNA 濃度 約 10 コピー/PCR)」を測定するとき、それぞれ陽性を示します。

③ 同時再現性試験
(a) 「TaqMan MAV (+)コントロール」を4回同時に測定するとき、すべて陰性を示します。
(b) 「TaqMan MIN (+)コントロール」を4回同時に測定するとき、すべて陽性を示します。

(3) 最小検出感度

M. avium DNA:1回測定あたり5コピー
M. intracellulare DNA:1回測定あたり5コピー

2. 相関性試験成績

臨床検体 899 例(喀痰:784 例、気管支洗浄液(BAL):8例、尿:27 例、組織:30 例、培養液:50 例)から抽出した核酸溶液を試料として、本キットと既承認品(アンプリコア マイコバクテリウムの構成製品 アビウム及びイントラセルラー、コバスアンプリコア マイコバクテリウムの構成製品 アビウム及びイントラセルラー)の比較検討を行ったところ、それぞれ両法で測定が有効であった試料について、下表のように良好な結果が得られました。

(1) *M. avium* DNA の検出

		既承認品 (アンプリコア)	
		陽性	陰性
本キット	陽性	140	10
	陰性	2	734
一 致 率		98.6% (874/886)	

		既承認品 (コバス アンプリコア)	
		陽性	陰性
本キット	陽性	144	2
	陰性	6	730
一 致 率		99.1% (874/882)	

(2) *M. intracellulare* DNA の検出

		既承認品 (アンプリコア)	
		陽性	陰性
本キット	陽性	86	1
	陰性	2	788
一 致 率		99.7% (874/877)	

		既承認品 (コバス アンプリコア)	
		陽性	陰性
本キット	陽性	88	1
	陰性	1	791
一 致 率		99.8% (879/881)	

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

(1) 検体及び本キットの取扱いには、使い捨て手袋、実験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用するなど、人体に直接触れないように注意してください。また、測定終了後はよく手を洗ってください。
(2) ピペットは口で吸わないでください。
(3) 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水でじゅうぶんに洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
(4) 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合には、直ちに多量の水で洗い流してください。
(5) 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
(6) 検体をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
(7) 検体及び本キットを取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。
(8) 検体は感染性を有するものとして、各施設の安全規定に従って取り扱ってください。
(9) 検体を取り扱う際に使用した器具類は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱滅菌処理をするか、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)に1時間以上浸すなどにより消毒してください。これらの作業中はじゅうぶんに換気を行ってください。

2. 使用上の注意

(1) プライマー及びプローブは、測定するウイルスの遺伝子の中でも保存性が高く変異が少ない遺伝子領域を反応のターゲットとしておりますが、まれに起こる遺伝子の変異や欠損/挿入などにより、反応性が低下し正確に測定できない場合や検出できない場合があります。
(2) ウイルスの DNA の測定・検出の結果は、検体採取の方法や感染の進行度などの患者因子の影響を受ける場合があります。
(3) 従来の測定方法から新しい測定方法に変更する場合は、変更前後の測定方法の相関性などを確認のうえご利用ください。
(4) 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
(5) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
(6) ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。
(7) バーコードをぬらしたり、ペンで記入するなどして汚したりしないでください。
(8) すべての構成試薬は使用前に 15～25℃に戻してから使用してください。また、使用後は再び2～8℃で保存してください。
(9) すべての試薬は保存又は反応中に強い光を当てないでください。
(10) すべての試薬は開封又は分注時に微生物の汚染を避けてください。
(11) 増幅反応の準備は、紫外線照射装置の装備されたクリーンベンチ内で行ってください。ピペットなどは常にこのクリーンベンチ内に置いてください。増幅反応を準備するエリアには増幅後の DNA を持ち込まないでください。また、検体の分注には疎水性フィルター付きピペットと使い捨てチップを使用してください。
(12) 検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃などを徹底して行ってください。
(13) 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる DNase が少量でも検体に混入しますと、DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。

3. 廃棄上の注意

(1) 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従ってください。

(2) 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理してください。

(3) 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅された DNA の廃棄は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 5,000 ppm(0.5%)になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから廃棄してください。

(4) DNA を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)に一晩浸すなどにより DNA を破壊してから、焼却処理又は密閉できるビニール袋を2重に施し、医療廃棄物として処理してください。

(5) DNA を含む溶液は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 5,000 ppm (0.5%)になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから、各都道府県によって定められた規定に従って廃液処理してください。

(6) 廃棄の際に、検体及び試薬をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。

(7) TaqMan MAI マスターミックス及び TaqMan MYCO マグネシウム試薬は 0.09 w/v%アジ化ナトリウム、TaqMan MYCO 内部コントロール、TaqMan MAV (+)コントロール及び TaqMan MIN(+)コントロールは 0.05w/v%アジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるため、廃棄の際には多量の水で洗い流してください。

4. その他の注意

本品による測定値は既存製品と高い相関性を示しますが、系統的な誤差を生じる場合がありますので、必要に応じて相関性について検討されることをお勧めします。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2～8℃で凍結を避けて保存してください。

2. 有効期間

24 ヵ月

使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

コバス TaqMan MAI	96テスト

(各構成試薬の詳細につきましては、【形状・構造等(キットの構成)】の項を参照してください。)

【主要文献】

1) Longo, M C. et al. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990, 93, p.125～128.

2) 渡邊あゆみ ほか. 結核菌群核酸増幅同定検査試薬 コバス TaqMan MTB の基礎的検討およびアンプリコア マイコバクテリウムとの比較検討. 医学と薬学. 2007, 58(2), p.331～337.

3) 岡崎充宏 ほか. コバス TaqMan MTB とコバス アンプリコア MTB による結核菌群 DNA 検出の比較検討. 臨床と微生物. 2007, 34(5), p.443～448.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
カスタマーサポートセンター
〒105-0014 東京都港区芝2-6-1
フリーダイヤル: 0120-600-152

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒105-0014 東京都港区芝2-6-1
フリーダイヤル: 0120-600-152

《特許に関連するお知らせ》

本製品をご購入頂きましたお客様は、これら製品をヒトの体外診断目的におけるPCRによる核酸配列の増幅、検出及びその関連工程に使用することが許諾されています。この特定された使用許諾権以外には、いかなる種類の特許権又はライセンスも許諾されているものではありません。

本製品に含まれるシアニン染料に関する特許権は、GE Healthcare Bio-Sciences Corp.及び Carnegie Mellon University により所有されており、ロシュは同特許権の実施について、研究用及び体外診断用キットの構成試薬として用いることのみに許諾されています。同キットを研究又は体外診断以外の目的に使用する場合は、GE Healthcare Bio-Sciences Corp.(米国、ニュージャージー州ピスカタウェイ)及び Carnegie Mellon University(米国、ペンシルバニア州ピッツバーグ)からのサブライセンスが別途必要になります。

**下記URLのWebページに製造元の登録商標ならびに特許に関する情報が公開されていますのでご参照ください。
http://www.roche-diagnostics.us/patents

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

® 登録商標

0 7225512 001-D
05031516001-07